取扱説明書

(商品コード: ALB01A) ver. 1.1 2013 年 8 月 14 目作成

*本製品は研究用キットです。診断、治療目的には使用しないでください。

*右記 web 上に掲載しているプロトコールの最新版を確認のうえ操作して下さい。→metallogenics.com

【測定原理】

本キットに含まれている発色試剤である bromocresol purple (BCP) はアルブミンと反応するとアルブミン・BCP 複合体を生成し、その色調が変化します (黄色→緑色)。この呈色変化を可視吸光光度法で測定することによりアルブミン濃度を求めることが出来ます。

【アルブミン定量の意義】

アルブミンは肝臓で生成される重要な血清タンパク質であり、栄養や膠質浸透圧の調節、カルシウムイオン、ビリルビン、遊離脂肪酸、薬物、ステロイドの輸送等、極めて広範な機能を持っています。 肝臓病、栄養失調、皮膚障害(皮膚炎、火傷あるいは脱水)ではアルブミンレベルが変動します。また、尿中アルブミンの変動と疾病との関連性についても注目されています。

【キットの内容】

合計 200 測定分(商品コード: ALB01A)

| 発色試液 | $48~\text{mL}{	imes}1$ |
|-------------------|------------------------|
| BSA 標準品(グロブリンフリー) | 40 mg ×1 |

【測定試料の注意点】

- ・検体を保存する場合は密栓して冷蔵保存、あるいは凍結保存してください。
- ・本キットは血清中のアルブミン定量に最適化されています。 その他の試料(細胞抽出液、組織抽出液等)を検体とする場合は、

検体中のターゲット濃度が測定レンジ内であることを確認し、適宜測定パラメータを最適化される ことをお奨め致します。

- ・本キットは全血を検体として用いることはできません。
- ・尿試料の場合、懸濁が多いと誤差の原因となります。可能な限り新鮮なものを使用してください。
- ・血清分離剤、凝固促進剤(トロンビン)、抗凝固剤(ヘパリン)および解糖阻止剤による影響はありませんが、NaF入りの採血管で採血された検体は低値を示す場合がありますので注意してください。
- ・検体のマトリクスと同様の標準液 (キャリブレータ:血清管理物質、尿標準物質) を用いることで、 一層の正確性を付与させることができます。また、標準液を別途調製される場合は、グロブリンを 含まないアルブミン原末を使用してください。

【オペレーション】

1. 試薬の準備 (用事調製)

発色試液を常温に戻し、以下の用量で標準液を調製して下さい。

発色試液の調製

常温に戻し、そのまま使用して下さい。

BSA 標準液 (4.0 g/dL)

BSA 標準品に精製水を 1mL 添加、蓋をしめ転倒混和し、30 分間室温で静置して下さい。

*アルブミン濃度が 6 g/dL を超える検体を定量する場合は 2 倍希釈したものをアッセイ検体として下さい。または、BSA 標準品に対して 0.5mL の精製水を添加し、8 g/dL の BSA 標準液とし、適宜、希釈した標準液を調製、多点検量線を作成しアルブミン濃度を算出して下さい。

*発色液は開封後、冷暗所 (2-8℃) に保存し、1ヶ月以内に使用して下さい。

*BSA 標準液の調製後は-20℃以下で保存し、1ヶ月以内に使用して下さい

2. アッセイと測定操作

A.プレートリーダー(紫外可視分光光度計)による定量の場合 (242 uL 容量)

〇アッセイ

以下の用量で発色試液、標準液、試料を分注し、混合して下さい。

混合後 10 分静置し、上記の測定条件でマイクロプレートリーダーにより測定してください。

アッセイ検体

| | 試薬ブランク | BSA 標準試料 | 試 料 |
|-------------------------|--------|----------|-----|
| 精製水(μL) | 2 | - | ī |
| BSA 標準液(μL) | = | 2 | = |
| 試 料 (µL) | - | - | 2 |
| 発色液(μL) | 240 | 240 | 240 |
| 10 分間室温で静置後、所定波長を吸光度を測定 | | | |

^{*}ピペッティングにより泡が発生しないように丁寧に混合してください。泡が発生した場合はプレートミキサー等により除去してください。プレートミキサーのみによる混合、撹拌では再現性不良が発生する場合があります。
*標準液の濃度はカットオフ値、目的に合わせて、選択してください。

測定条件 (マイクロプレートリーダー)

| MICHELL (17 17 17) | | | |
|----------------------|---------------------|--|--|
| 測光波長 (主波長) | 600 nm (吸収極大波長) | | |
| 感度のある波長域 | 590∼610 nm | | |
| 測定温度 | 25∼37°C | | |
| ウエル | 96 穴ウエル or 分光測定用セル等 | | |
| *補正波長(副波長) | 660∼700 nm | | |

*紫外可視分光光度計を使用してキュベットで測定する場合、測定可能な検体数はマイクロプレートリーダー使用 時と比較して少なくなります。ダウンサイズされた微量セルを使用することで96 穴ウエルと同等の測定数を得る ことも可能です。詳細については、弊社 website のサポート情報「紫外可視分光計 微量セル推奨品」を御参照下 さい。微量セルはセルホルダーとのクリアランスの僅差による誤差、再現性の低下などが報告されています。使用 時にはセルホルダーへ均一に装着されていることを十分に確認してください。

*濁りが著しい試料の場合、主波長の吸光度から副波長の吸光度を差分した値を OD 値として濃度を算出することで、より一層の正確性を付与させることができます。

例:主波長の吸光度(600nm)から副波長として660~700nmの吸光度を同様に測定し、

OD $_{6$ 複称} = OD $_{± \bar{\kappa} R}$ $- OD _{\parallel \bar{\kappa} R}$ とする (主波長のみの場合と副波長を適用した場合との測定誤差は約 $2 \sim 4$ %です。)。 *タンパク質低吸着タイプのウエルを使用してください。

○濃度の算出

標準液濃度(g/dL)

$${{\rm OD}_{\stackrel{}{
m li}}}^+ {{\rm OD}_{\stackrel{}{
m J} \supset {\cal V} f}} \over {{\rm OD}_{\stackrel{}{
m li}}}^+ {{\rm OD}_{\stackrel{}{
m J} \supset {\cal V} f}}} \hspace{0.2in} imes 4.0 \hspace{0.2in} = \hspace{0.2in} {\rm g/dL}$$

アルブミン濃度

 OD
 試料:
 試料の吸光度

 OD
 標準試料の吸光度

 OD
 ブランク:

 試薬ブランクの吸光度

*単位換算 g/dL×144.9 = μmol/L

*アルブミン濃度が 6 g/dL を超える検体を定量する場合は 2 倍希釈したものをアッセイ検体として下さい。または、BSA 標準品に対して 0.5mL の精製水を添加し、8 g/dL の BSA 標準液とし、適宜、希釈した標準液を調製、多点検量線を作成しアルブミン濃度を算出して下さい。

【主な仕様と性能】

| 感度 | 試薬ブランクを対照として BSA 標準液(4 g/dL)を測定した時の \triangle OD は $0.08\sim0.15$ の範囲内です。 |
|-------------|---|
| 同時再現性 | 同一検体を5回測定した時のCVは5%以内です。 |
| 正確性 | 既知濃度の血清標準物質における表示値との差は 15%以内です。 |
| 測定範囲 | 0.1~7.0 g/dL |
| 共存物質の参考許容範囲 | 溶血性ヘモグロビンは、0.5 g/dL まで影響を与えません。 |

【品質保持期限と保存方法】

本品の品質保持期限は製造後 12 $_{
m F}$ 月です。(冷蔵 $2\sim 8^{\circ}$) 開封後、冷暗所($2\sim 8^{\circ}$)で保存し、1 $_{
m F}$ 月以内に使用して下さい。

【参考文献】

- 1) 岡村研太郎, 臨床検査, 18, 646 (1974)
- 2) 村本良三, 松下 誠, 入野 勉, 臨床化学, 26, 38 (1997)
- 3) Suzuki Y, BUNSEKIKAGAKU, Vol.52, No.4, pp.269-273 (2003).

【製造販売業者】

メタロジェニクス株式会社

千葉市中央区亥鼻1-8-15 千葉大亥鼻イノベーションプラザ

※マイクロアッセイ ™は、メタロジェニクス株式会社 の 試薬キットの名称です。

問い合わせ先

メタロジェニクス株式会社 営業部

〒260-085 千葉市中央区亥鼻1-8-15 千葉大亥鼻イノベーションプラザ

TEL: 043-227-6767 FAX: 043-227-6768

e-mail: <u>sales@metallog</u>enics.com URL: <u>http://metallogenics.com/</u>

- ※ 取扱説明書、測定プロトコール等、製品に関する最新の情報は、下記弊社 website のサポートコーナーで御確認下さい。 http://metallogenics.com/
- ※ 本製品は研究用であり、その数値を完全に保証するものではございません。あらかじめご了承下さい。
- ※ 表記性能は汎用されているマイクロプレートリーダー、紫外可視分光光度計を用いた場合の目安です。使用機器の型式によっては完全に一致しない場合があります。あらかじめご了承下さい。
- ※ 品質に関してのお問い合わせの際は、試薬キット包装袋に貼付の Lot No.を御確認の上、お問い合わせ下さい。
- ※ 商品の仕様・サービス・包装形態・梱包形態・測定プロトコールは、予告なく変更する場合があります。本取扱説明書に従い、 適切に御使用下さい。
- ※ 商品の輸送・取扱い・処理・廃棄については、付属の製品安全データシート (MSDS) に従って下さい。